DOI：10.1131931/guihaia.gxzw202310025

糯高粱叶中 IAA 产生菌的分离筛选及其促植物生长作用[1]

王新叶，张敏，田小龙，袁平，李红霞，罗贞标，岳倩倩，赵亮*

（茅台学院，贵州 仁怀 564500）

摘要：糯高粱是白酒酿造的重要原料，其生长过程需要大量的化学肥料，作为环境友好型肥料，微生物菌剂有很广阔的应用前景。为开发对糯高粱生长有促进生长功能的微生物菌剂，该研究以糯高粱叶片为实验材料，分离筛选具有植物生长激素 IAA（吲哚乙酸）产生功能的微生物菌株，基于菌株的 16S rDNA 保守序列对菌株进行系统发育分析，确定菌株的分类学地位；通过菌悬液浸种处理，分析菌株对糯高粱种子萌发的影响；通过盆栽实验，分析菌株对高粱幼苗生长的影响。结果表明：（1）从糯高粱叶片中分离筛选得到 4 株具有产 IAA 功能的微生物菌株，HY1-1、HY1-2、HY1-3 和 HY1-4。其中 IAA 单位浓度产生量最高的是菌株 HY1-1，为 2.56 mol·L^{-1}。（2）运用贝叶斯推断树对菌株 16S rDNA 进行系统发育分析，这 4 株菌都属于枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*。（3）HY1-1、HY1-2、HY1-3 和 HY1-4 都能促进糯高粱种子萌发，与对照组相比，经菌悬液浸泡的糯高粱种子发芽率显著提高了 40.04%~165.52%，其中促进效果最明显的是 HY1-1，种子发芽率提高了 165.52%。（4）选取 HY1-1 菌株做盆栽实验，在糯高粱幼苗根部接种 *B. subtilis* HY1-1 30 天后，糯高粱幼苗的株高显著增加了 29.17%、全磷含量显著增加了 5.12%；糯高粱根际基质中速效氮显著增加了 31.70%，有效磷显著增加了 28.88%。综上所述，糯高粱叶内生菌 *B. subtilis* HY1-1 能够通过分泌植物生长激素 IAA 及为植物提供营养元素等方式促进糯高粱植株的生长，该研究为进一步开发促糯高粱生长菌剂提供了种质资源。

关键词：植物内生菌，分离筛选，植物生长激素 IAA，种子萌发，促高粱生长

中图分类号：Q948　　**文献标识码：**A　　文章编号：

Isolation and screening of IAA-producing bacteria from glutinous sorghum leaves and its plant growth-promoting function

WANG Xinye, ZHANG Min, TIAN Xiaolong, YUAN Ping, LI Hongxia,
LUO Zhenbiao, YUE Qianqian, ZHAO Liang*

（*Moutai Institute*, Renhuai, 564500, Guizhou, Renhuai）

Abstract: Glinous sorghum is an important raw material for the production of baijiu. During its growth process, glinous sorghum requires a substantial amount of chemical fertilizers. As an environmentally friendly fertilizer, microbial agent has great prospects in future. The aim of this

基金项目：贵州省科技厅基础研究计划项目（黔科合基础【2020】1Y076）；贵州省教育厅科技拔尖才项目（黔教合 KY 字【2020】035）；贵州省教育厅青年科技人才成长项目（黔教合 KY 字【2020】232）；遵义市科学技术局——茅台学院市校联合科技研发资金项目（遵市科合 HZ 字【2020】317 号，遵市科合 HZ 字【2021】326 号，遵市科合 HZ 字【2021】312 号，遵市科合 HZ 字【2021】307 号）；茅台学院高层次人才科研启动项目（mygccrc【2022】023，mygccrc【2022】027）。

第一作者：王新叶(1986 -)，博士，副教授，主要从事微生物资源与利用研究，(E-mail)wangxinye@mtxy.edu.cn。

***通信作者：**赵亮，博士，副教授，主要从事微生物生态研究，（E-mail）zhaoliang@mtxy.edu.cn。

paper is to develop a growth promoting microbial agent for glutinous sorghum. In this study, the glutinous sorghum leaves were used as experimental materials to isolate and screen microbial strains with plant growth hormone IAA (indole acetic acid) production ability. Phylogenetic analysis was performed to determine the taxonomic status of these microbial strains based on the 16S rDNA conserved sequences. The effects of the strains on glutinous sorghum seed germination was analyzed by soaking the seeds with bacterial suspension. The effect of strain on the sorghum seedlings growth was analyzed by pot experiment. The results were as follows: (1) Four microbial strains capable of producing IAA were isolated and screened from glutinous sorghum leaves, designated as HY1-1, HY1-2, HY1-3, and HY1-4. Among them, HY1-1 exhibited the highest IAA production per unit concentration which was 2.56 $mol \cdot L^{-1}$. (2) Bayesian inference tree analysis based on the 16S rDNA sequences revealed that all four strains belonged to *Bacillus subtilis*. (3) HY1-1, HY1-2, HY1-3, and HY1-4 could promote the glutinous sorghum seed germination rates. Compared to the control groups, the germination rates of glutinous sorghum seeds soaked in bacterial suspension significantly increased by 40.04% to 165.52%. Among them, HY1-1 demonstrated the most prominent promotion effect, with a germination rate increase of 165.52%. (4) HY1-1 strain was selected for a pot experiment. After 30 days of inoculation on the roots of glutinous sorghum seedlings, the stem heights of the seedlings significantly increased by 29.17%, and total phosphorus content increased significantly by 5.12%. The rhizosphere substrate of glutinous sorghum exhibited a significant increase in available nitrogen content by 31.70% and available phosphorus content by 28.88%. *B. subtilis* HY1-1, an endophytic bacterium in glutinous sorghum leaves, can promote the growth of glutinous sorghum plants by secreting the plant growth hormone IAA and providing necessary nutrients. This study provides genetic resources for the further development of microbial agents targeting the growth promotion of glutinous sorghum.

Key words： plant endophyte bacteria, isolation and screening, plant hormone IAA production, seed germination, glutinous sorghum growth promoting

糯高粱胚乳中支链淀粉含量较高，蒸煮后粘性强，是酿造优质白酒的重要原料(丁延庆等, 2019)。高粱产量的提高离不开肥料的使用，氮肥是高粱增产的主要因素，磷肥次之，然而持续的高化肥投入会造成肥料利用效率降低、土壤环境破坏、水体污染等问题(陈同斌等, 2002；董二伟等, 2012)。微生物有机肥能增加植物养分的供应量，促进植物生长，提高产量，改善农产品品质及农业生态环境，减轻植物病虫害，减少化肥使用量，在可持续农业战略发展中的地位日趋重要(李西强等, 2013)。

植物内生菌存在于植物的根、茎、叶、树皮、花和种子里，对植物的健康和发育有良好的促进作用(Dudeja et al., 2011; Santoyo et al., 2016)。叶内生菌主要是通过垂直传播和水平传播的方式获得的(Balint et al., 2013)，叶片的内部组织是一个吸引大量细菌和真菌的环境，含有丰富的微生物资源(Van denkoornhuyse et al., 2015)。宿主植物为内生菌提供持续的营养供应，作为回报，内生菌通过磷酸盐溶解、氮固定、植物生长激素 IAA（吲哚乙酸）产生、铁载体产生、ACC（1-氨基环丙烷-1-羧酸）水解酶合成等促进植物对营养元素的吸收，直接或间接促进植物生长(Cueva-Yesquén et al., 2021)。植物内生细菌与寄主植株在长期共同进化过程中形成了密切的相互关系，成为化肥和其他微生物制剂的最佳竞争者，其合理应用将减少化学农药和肥料对环境的污染，有利于保持生态平衡(梁志超等, 2019)。

IAA 属于植物生长素家族中的吲哚衍生物，是调节植物各种发育和生理过程的主要激素(Nutaratat et al., 2015)，能够刺激细胞分裂、细胞伸长、细胞分化、光和重力响应、调节叶

片掉落和果实成熟等(Teale et al., 2006)。因此，植物内生菌的 IAA 产生能力被认为是促进植物生长的关键指标。该研究以酿酒用糯高粱红缨子品系为实验材料，采用 LB 培养基分离叶内生菌，利用 Salkowski 试剂检测菌株的 IAA 产生能力，结合 16S rDNA 测序分析对菌株进行分子生物学鉴定，并综合种子萌发实验、糯高粱盆栽实验评价菌株对糯高粱的促生长能力。以期获得对糯高粱生长有促进作用的微生物菌株，并对微生物菌株的促生长机制进行初步探究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试糯高粱为贵州省茅台镇酱香型白酒酿造用糯高粱，糯高粱品种为红缨子，来自仁怀市丰源有机高粱育种中心。

1.2 糯高粱叶内生菌的分离纯化

称取 10 g 糯高粱幼苗的叶片，用无菌剪刀剪成小块后进行表面消毒（70%乙醇 2 min，5%次氯酸钠 5 min，70%乙醇 2 min，无菌水冲洗 3 次），再将叶片剪碎，转移到 90 mL 无菌水中，旋涡震荡 30 min，作为菌悬液母液。将菌悬液用无菌水逐级稀释到 10^{-1}、10^{-2} 和 10^{-3} 3 个浓度梯度，分别从各个浓度梯度菌悬液中吸取 100 μL 到 LB 固体平板上，涂布均匀。在 30 ℃培养箱中倒置培养 72 h。挑取 LB 平板上长出的单菌落，用分区划线法对菌株进行纯化，纯化好的菌株用终浓度为 30%的甘油进行保藏。

1.3 植物激素 IAA 产生能力测定

将菌株接种于 R2A 液体培养基中，30 ℃，150 r·min^{-1} 培养 4 d 后，测定菌悬液在λ=600 nm 处的吸光值。将培养好的菌悬液置于离心机中，5 000 r·min^{-1} 离心 10 min。取上清液 10 mL，加入等体积的 Salkowski 比色液，避光静置 30 min 后，测定混合液在λ=530 nm 处的吸光值。通过 IAA 浓度标准曲线计算 IAA 的产生量，并计算菌体浓度 $OD_{600\ nm}$ 为 1 时，菌株单位浓度 IAA 的产生量(何建清等, 2019)。

1.4 菌株的分子生物学鉴定

用改良月桂酸钠法提取菌株的基因组 DNA，用细菌通用引物 27F（5’-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3’）和 1492R（5’-GGTTACCTTGTTACGACT-3’）扩增菌株的 16S rDNA 片段，将 PCR 产物送至生物工程股份有限公司（上海）进行测序，将测序得到的 16S rDNA 序列信息与 NCBI 的 GenBank 数据库进行比对，下载与菌株 16S rDNA 同源性较高模式菌株的 16S rDNA 序列，利用 MEGA11 软件中 ClustalW 1.6 程序进行序列比对，使用 ModelTest3.7 结合 paup*4.0v10b 用于计算贝叶斯推断树最优构建模型，模型选取采用 Akaike 信息准则(Posada & CRANDALL, 1998; Cummings, 2004)。使用 MrBayes 3.1.2 软件构建贝叶斯推断树，建树过程采用 Metropolis-coupled Markov chain Monte Carlo（MCMCMC）算法，设置 1 条冷链 3 条热链抽取随机树，并行运算 2 次，共设置 2 000 000 代，每 1 000 代取一次样，运算收敛（平均分裂标准差<0.01）后得到 2 000 个树的后验分布。剔除前 25%（共 500 个）分布不稳定的样本树，留下后 75%（共 1 500 个）样本树用于获得 50%最大共有树，即最终的 16S rDNA 系统进化树(Ronquist & HUELSENBECK, 2003; Huelsenbeck & RONQUIST, 2011)。

1.5 菌株对糯高粱种子萌发的影响

1.5.1 菌悬液制备

从 LB 平板上挑取单菌落，接种在 LB 液体培养基中，30 ℃，150 r·min^{-1} 培养 3 d 后，5000 r·min^{-1}，10 min 离心收集菌体，用无菌水洗涤 3 次后，加入无菌水，制备菌悬液，调整菌悬液的终浓度为 $OD_{600\ nm}$=0.5~0.6，备用。

1.5.2 糯高粱种子预处理

挑选颗粒饱满、大小均匀的糯高粱种子，加入 70%乙醇，处理 2 min；倒掉乙醇，加入 5%的次氯酸钠，处理 5 min；倒掉次氯酸钠，再加入 70%的乙醇，处理 2 min；倒掉 70%乙醇，用无菌水冲洗 3~5 次。

1.5.3 菌悬液浸种

量取 100 mL 菌悬液，将糯高粱种子浸泡在菌悬液中，用锡纸包裹避光，室温放置 6 h，倒掉菌悬液，用无菌水将糯高粱种子清洗 3~5 次，用无菌的镊子将糯高粱种子平铺在水琼脂（1.4%琼脂）平板上，将平板倒置于 28 ℃培养箱中培养。对照组用等量蒸馏水处理，每个处理选用 100 颗糯高粱种子，对照组和实验组分别设置 3 个重复。

1.5.4 结果统计

分别于第 3 天和第 7 天计数种子发芽数量，计算发芽势和发芽率(郑庆钟等, 2016)。计算公式如下所示：

$$发芽势=\frac{发芽初期（第3天）种子发芽数}{供试种子数}\times100\%$$

$$发芽率=\frac{发芽初期（第7天）种子发芽数}{供试种子数}\times100\%$$

1.6 菌株对糯高粱生长的影响

1.6.1 糯高粱种子催芽

将糯高粱种子按照 1.3.2 的方法进行表面消毒处理，处理好的种子平铺于水琼脂平板上，将水琼脂平板倒置于 28 ℃培养箱中培养 48 h。

1.6.2 植物盆栽实验

将珍珠岩和蛭石按照 1∶2 的比例混合均匀，装在塑料花盆中，花盆规格为：高度 17.5 cm×底径 11.5 cm×口径 16.5 cm。将花盆用报纸封口后，121 ℃灭菌 30 min。挑选发芽的糯高粱种子种在花盆中，每个花盆播种 20 颗，每个处理 10 个花盆。

1.6.3 接菌

用 1.3.1 的方法制备菌悬液，待糯高粱幼苗露出土面，向每个花盆中加入 10 mL 菌液，对照组加入等量的无菌水。糯高粱生长过程中，根据需要加入改良霍格兰营养液（海博生物，霍格兰营养液（不含硝酸钙），产品编号：HB8870-1，使用时加入 NH_4NO_3 0.92 g/L 和 $CaCl_2$ 0.64 g/L）。

1.6.4 取样及指标测定

接菌 30 d 后，将糯高粱幼苗从基质中取出，用流水将根冲洗干净，用吸水纸将表面的水吸干，测量糯高粱的株高、鲜重等指标。

将糯高粱植株用硫酸-双氧水消解，用凯氏定氮法测定植物全氮含量(马宗琪等, 2014)，钼锑抗比色法测定植物全磷含量。利用碱解扩散法测定土壤碱解氮含量(杨清华, 2018)；碳酸氢钠溶液浸提，钼锑抗比色法测定土壤有效磷含量。

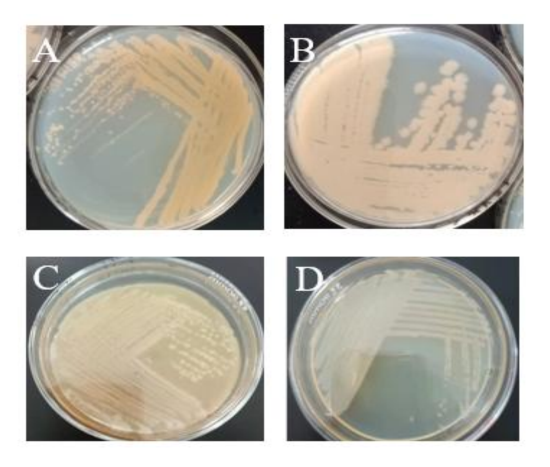
1.7 数据处理

用 Origin 2019 软件进行统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 菌株的分离和鉴定

从糯高粱叶片中分离得到 4 株细菌，编号为 HY1-1、HY1-2、HY1-3 和 HY1-4。如图 1A 所示，HY1-1 在 LB 平板上生长良好，菌落呈圆形，黄色，不透明，表面光滑，易挑起。如图 1B 所示，HY1-2 在 LB 平板上生长旺盛，菌落较大，略带微红色，表面光滑，不透明，易挑起。如图 1C 所示，HY1-3 为淡黄色，表面光滑，不透明，易挑起。如图 1D 所示，HY1-4 为白色针状菌落，表明光滑，不透明，易挑起。



A. 菌株 HY1-1；**B.** 菌株 HY1-2；**C.** 菌株 HY1-3；**D.** 菌株 HY1-4
A. Isolate HY1-1; **B.** Isolate HY1-2; **C.** Isolate HY1-3; **D.** Isolate HY1-4

图 1 糯高粱叶内生菌的菌落形态

Fig.1 Colony morphology of glutinous sorghum leave endophytic bacteria

基于菌株的 16S rDNA 序列构建系统发育树，确定菌株的分类学地位。如图 2 所示，基于贝叶斯推断树，HY1-1、HY1-2、HY1-3 和 HY1-4 与 *Bacillus. subtilis* strain DSM 10 聚成一类，置信度为 98%，表明这 4 株菌都属于枯草芽孢杆菌。因此，分别将这 4 株菌命名为 *B. subtilis* HY1-1、*B. subtilis* HY1-2、*B. subtilis* HY1-3 和 *B. subtilis* HY1-4。

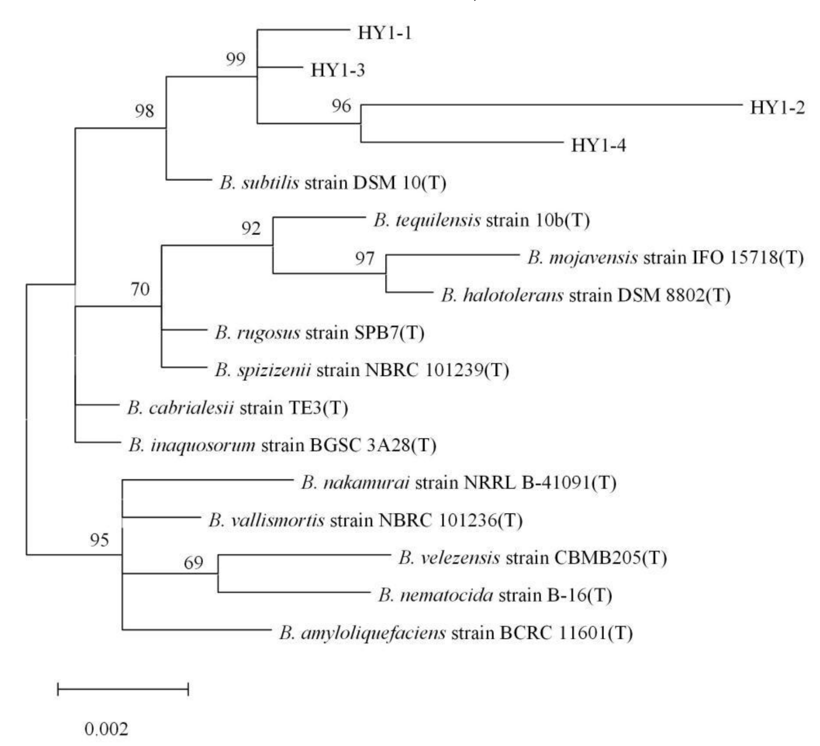


图 2 基于 16S rDNA 构建的贝叶斯推断树

Fig.2 Bayesian inference tree based on 16S rDNA sequences

2.2 植物生长激素 IAA 产生能力测定

称取 17.50 mg 分析纯 IAA 标准品，用少量乙醇溶解后，加入约 90 mL 蒸馏水，将溶液

转移到容量瓶中，定容至 100 mL，制备浓度为 1 mmol·L^{-1} 的 IAA 标准液。以吸光值为横坐标，IAA 浓度为纵坐标，绘制 IAA 浓度标准曲线。根据标准曲线计算上清液中 IAA 的含量，并计算菌液浓度 $OD_{600\ nm}$=1 时，单位浓度菌株 IAA 的产生量。如表 1 所示，单位浓度菌株 IAA 产生量最高的菌株为 HY1-1，为 2.56 mol·L^{-1}；其次为 HY1-3，单位浓度菌株 IAA 产生量为 2.29 mol·L^{-1}；单位浓度菌株 IAA 产生量最低的是 HY1-2，为 1.43 mol·L^{-1}。

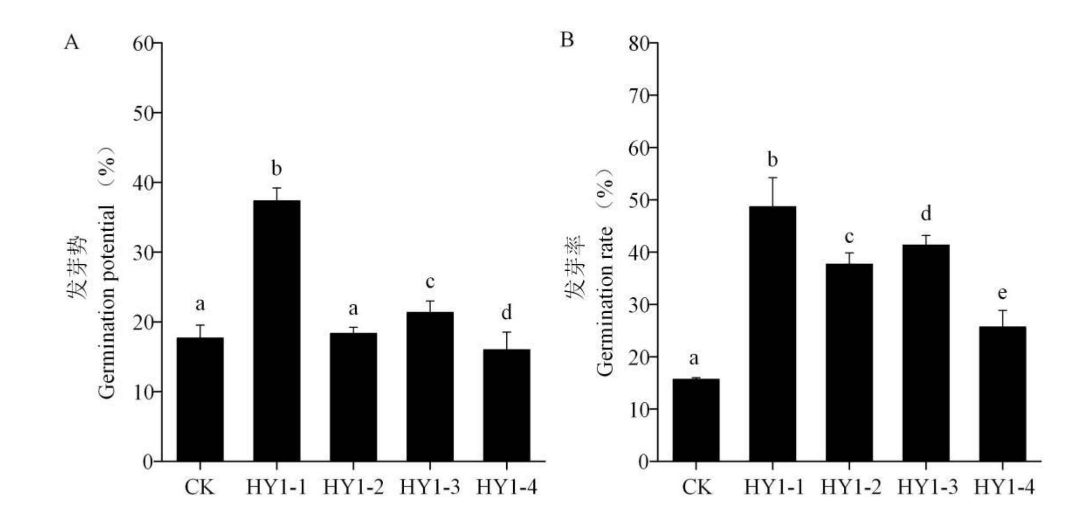
表 1 单位浓度菌体产生 IAA 的量

Table 1 IAA produced by bacteria per unit concentration

菌株编号 Strain code	序号 Serial number	单位浓度 IAA 产生量 IAA production per unit concentration (mol·L^{-1})	平均值 Mean value (mol·L^{-1})
	1	1.34	
HY1-1	2	3.16	2.56
	3	3.17	
	1	1.32	
HY1-2	2	0.99	1.43
	3	1.97	
	1	2.33	
HY1-3	2	2.26	2.29
	3	2.27	
	1	2.96	
HY1-4	2	0.31	1.66
	3	1.71	

2.3 菌株对糯高粱种子萌发的影响

如图 3：A 所示，对照组糯高粱发芽势为 17.67%，用 *B. subtilis* HY1-1 菌悬液对糯高粱种子进行处理后，发芽势为 37.33%，显著提高了 111.26%；用 HY1-2 菌悬液处理后，糯高粱种子发芽势为 18.33%，没有显著变化；用 HY1-3 菌悬液处理后，糯高粱种子发芽势为 21.33%，显著增加了 7.64%；用 HY1-4 菌悬液处理后，糯高粱种子发芽为 16%，显著降低了 5.88%。如图 3：B 所示，对照组的糯高粱种子发芽率为 18.33%，用 HY1-1 菌悬液处理后，糯高粱种子的发芽率为 48.67%，显著提高了 165.52%；用 HY1-2 菌悬液处理后，糯高粱种子发芽率为 37.67%，显著提高了 105.51%；用 HY1-3 菌悬液处理后，糯高粱种子的发芽率为 41.33%，显著提高了 125.48%；用 HY1-4 菌悬液处理后，糯高粱种子的发芽率为 25.67%，显著提高了 40.04%。结果表明，*B. subtilis* HY1-1、HY1-2、HY1-3 和 HY1-4 对糯高粱种子萌发都有积极的促进作用，其中，HY1-1 的促进效果最显著。



A. 糯高粱种子发芽势；**B.** 糯高粱种子发芽率。图中 a、b、c、d、e 代表不同处理组间有显著性差异（$P < 0.05$），相同字母代表组间无显著性差异，下同。

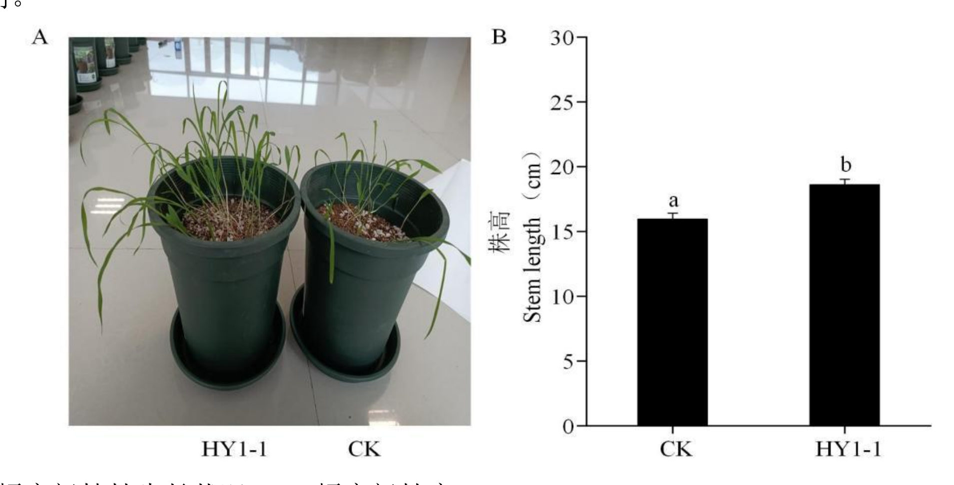
A. Germination potential of glutinous sorghum seeds; **B.** Germination rate of glutinous sorghum seeds. Letters a, b, c, d, e represent significant differences between different treatment groups ($P < 0.05$), while the same letter indicates no significant difference between groups, the same below.

图 3 *Bacillus. subtilis* HY1-1 对糯高粱种子萌发的影响

Fig.3 Effects of *Bacillus. subtilis* HY1-1 on glutinous sorghum seed germination

2.4 菌株对糯高粱生长的影响

综合上述实验结果，选取 HY1-1 做盆栽实验。如图 4：A 所示，与不接菌的对照组相比，接种 *B. subtilis* HY1-1 30 天后，糯高粱幼苗植株生长旺盛，茎秆健壮。分别从对照组和实验组糯高粱幼苗中随机选取 30 株测量幼苗的株高，如图 4：B 所示，对照组幼苗的平均株高为 15.53 cm，实验组幼苗的平均株高为 20.06 cm。与对照组相比，实验组幼苗的株高显著增加了 29.17%（$P < 0.05$）。结果表明，菌株 *B. subtilis* HY1-1 对糯高粱幼苗的生长有积极的促进作用。



A. 糯高粱植株生长状况；**B.** 糯高粱株高。

A. Growth status of glutinous sorghum plants; **B.** Stem length of glutinous sorghum.

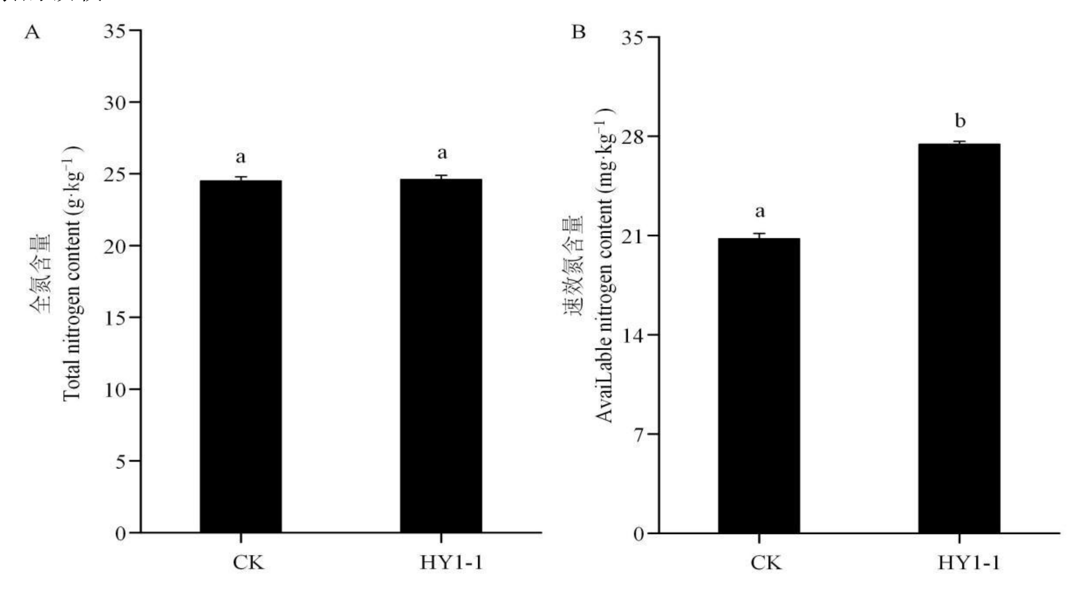
图 4 *Bacillus. subtilis* HY1-1 对糯高粱生长的影响

Fig.4 Effects of *Bacillus. subtilis* HY1-1 on glutinous sorghum growth

2.5 接种 HY1-1 对植物-基质体系营养元素的影响

2.5.1 植株全氮和基质速效氮

如图 5：A 所示，对照组糯高粱植株的全氮含量为 24.50 $g \cdot kg^{-1}$ 植株，接种 HY1-1 糯高粱植株的全氮含量为 24.60 $g \cdot kg^{-1}$ 植株，两者无显著性差异。如图 5：B 所示，对照组糯高粱根际基质中速效氮的含量为 20.80 $mg \cdot kg^{-1}$ 基质，接种 HY1-1 糯高粱根际基质中速效氮的含量为 27.40 $mg \cdot kg^{-1}$ 基质，与对照组相比，实验组基质中速效氮含量增加了 31.70%（$P < 0.05$）。结果表明，接种 HY1-1，增加了糯高粱根际基质中速效氮的含量，但并没有影响高粱植株对氮素的吸收。



A. 植株全氮含量；**B.** 基质速效氮含量。下同。

A. Plant total nitrogen content; **B.** Available nitrogen content of substrate. The same below.

图 5 *Bacillus. subtilis* HY1-1 对植株全氮和根际基质速效氮的影响

Fig.5 Effects of *Bacillus. subtilis* HY1-1 on plant total nitrogen content and available nitrogen content of substrate

2.5.2 植株全磷和基质有效磷

如图 6：A 所示，对照组糯高粱植株的全磷含量为 3.89 $g \cdot kg^{-1}$ 植株，接种 HY1-1 糯高粱植株的全磷含量为 4.10 $g \cdot kg^{-1}$ 植株，与对照组相比，实验组糯高粱植株全磷含量增加了 5.12%（$P < 0.05$）。如图 6：B 所示，对照组糯高粱根际基质中有效磷的含量为 10.77 $mg \cdot kg^{-1}$ 基质，接种 HY1-1 糯高粱根际基质中有效磷的含量为 13.88 $mg \cdot kg^{-1}$ 基质，与对照组相比，实验组基质中有效磷增加了 28.88%（$P < 0.05$）。结果表明，接种 HY1-1 既增加了基质中有效磷的含量，又促进了糯高粱植株对磷元素的吸收。

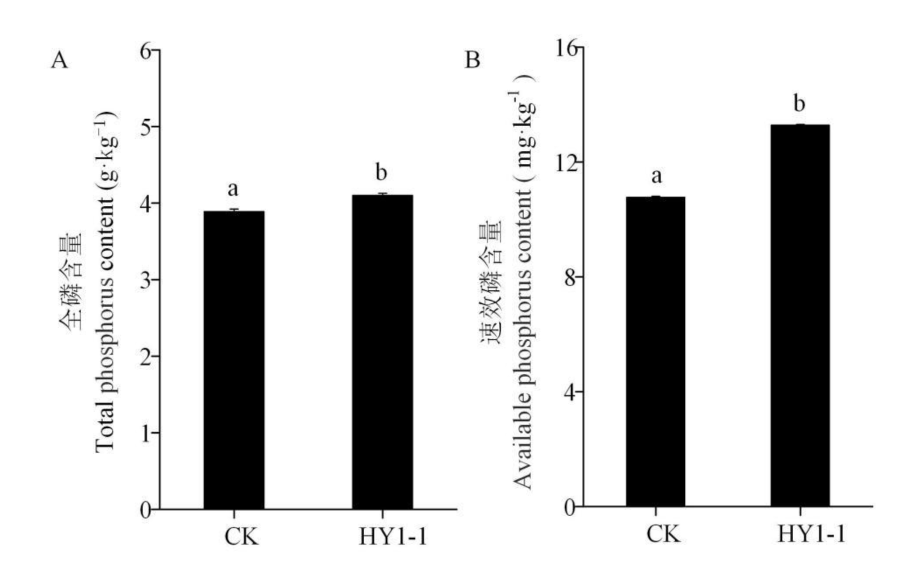


图 6 *Bacillus. subtilis* HY1-1 对植株全磷和基质有效磷的影响

Fig.6 Effects of *Bacillus. subtilis* HY1-1 on plant total phosphorus content and available phosphorus of substrate

3. 讨论与结论

芽孢杆菌科是一类好氧性产芽孢的革兰氏阳性杆状细菌，其生理特征丰富多样，分布广泛，极易分离培养，是植物内生菌里研究最多以及应用价值广泛的一大类细菌(龚国利等，2020)。该研究从叶片中筛选获得的内生菌均枯草芽孢杆菌，这 4 株均具有植物生长激素 IAA 产生能力，能够提高糯高粱种子的发芽率，HY1-1 显著增加了糯高粱幼苗的株高，促进了糯高粱生长。类似的，将枯草芽孢杆菌 EA-CB0575 接种到土豆根部，土豆干重提高了 34.60%。而在 EA-CB0575 的基因组上，具有合成吲哚乙酸、铁载体、固氮酶的基因，这些基因在枯草芽孢杆菌中具有一定的保守性(Nicolás et al., 2020)，因此枯草芽孢杆菌能够通过溶磷、增强氮固定、产生铁载体的方式直接促进植物生长。李乐等（2016）研究表明根瘤菌剂、TBK 复合微生物原菌剂、微生物复合菌剂能显著促进绿豆生长。其中，芽孢杆菌具有抑制植物病原菌、促进植物生长的能力（Alou et al., 2015; Kotb et al., 2015）。吴玉洪等（2023）通过研究海洋贝莱斯芽孢杆菌对黄瓜幼苗促生作用，发现海洋贝莱斯芽孢杆菌具有较高的固氮、产 ACC 脱氨酶、吲哚乙酸和铁载体能力，对幼苗有很好的促生长作用。张荣胜等（2018）研究解淀粉芽孢杆菌对水稻的促生长作用及其机理发现，此菌可产高水平的生长素、赤霉素、脱落酸和亚精胺，不仅对水稻生长有促进作用，而且具有很好生防效果。刘鲁峰等（2020）从甘蔗中分离得到的内生枯草芽孢杆菌，通过浸泡接种玉米种子与甘蔗单芽茎，发现玉米和甘蔗的各项生理指标均优于未接种处理，表明此菌强效的促生长性能。该研究以糯高粱为对象，基于种子萌发、IAA 和基质体系营养元素等指标分析，发现枯草芽孢杆菌对糯高粱有很好的促生长性能。该研究与先前研究相比，不仅扩展了芽孢杆菌的促植物生长寄主范围，同时也证明了枯草芽孢杆菌在酿酒原料种植方面的应用价值和潜在前景，为白酒酿造原料的可持续发展提供菌株资源和技术线索。

该研究中虽然未对菌株的溶磷能力和固氮能力进行检测，但是盆栽实验表明，接种 HY1-1 的糯高粱根际基质中速效氮（碱解氮）含量增加了 31.70%，有效磷的含量显著增加了 28.88%，间接表明 HY1-1 具有溶磷和固氮能力，进而提高了寄主植物对磷元素和氮元素的吸收能力。植物内生菌固氮、溶磷能力，能够为植物生长提供氮素和磷素，进而促进植物生长。在糯高粱生长过程中，需要大量的氮肥和磷肥，而土壤往往满足不了(秦耀祖等, 1980)。

氮素和磷素除了会对高粱的产量产生影响外，还会影响高粱籽粒中总淀粉和支链淀粉的含量(曹昌林等, 2011)。此外，低磷胁迫下，高粱的干重、植株地上部分、叶绿素含量和可溶性蛋白的含量都会下降(马建华等, 2013)。该研究以糯高粱叶为分离源，表明从中获得的枯草芽孢杆菌可为寄主植物提供有效的氮素和磷素营养，保障了植株正常生长发育。同时，为进一步开发糯高粱促生菌株提供了一条有效的筛选途径。此外，在以后的研究中，可将高通量测序和菌株纯培养分离手段相结合，揭示糯高粱内生菌的多样性及群落组成，筛选获得具有多重促生特性的优良菌株，为选育糯高粱专用菌剂储备菌种资源。而基于对菌株 HY1-1 的初步探索，我们认为在以后的研究中，可深入挖掘糯高粱响应 *B. subtilis* HY1-11 侵染的应答机制，揭示此菌促进糯高粱生长的深层机理，为提高糯高粱产量和质量提供技术线索和菌种支持。

该研究可得到 3 方面结论：（1）叶片是获得糯高粱促生长内生菌的重要分离源；（2）4 株分离获得的枯草芽孢杆菌具备产 IAA 的能力（1.43 – 2.56 $mol \cdot L^{-1}$），对糯高粱种子萌发有显著的促进作用，主要表现在可提高种子发芽势和发芽率；（3）4 株待测菌株中 HY1-1 促生长能力最强，可使糯高粱株高显著提高 29.17%，根际基质速效氮含量显著增加 31.70%、有效磷含量显著增加 28.88%，全磷含量显著增加 5.12%，为将来大规模开发促生长菌剂提供菌种资源。

参考文献

CAO CL, DONG LL, SONG XD, 2011. Effect of nitrogen phosphorus and potassium fertilizers on starch content in sorghum kernel[J]. Shandong Agric Sci, (1): 56-58.[曹昌林, 董良利, 宋旭东, 2011. 氮、磷、钾肥对高粱籽粒淀粉含量的影响[J]. 山东农业科学, (1): 56-58.]

陈同斌, 曾希柏, 胡清秀, 2002. 中国化肥利用率的区域分异[J]. 地理学报, 57(5): 531-538.

DING YQ, ZHOU LB, WANG C, et al., Research advance in glutinous sorghum for making sauce-flavor liquor in China[J]. Biotechnol Bull, 35(5): 28-34. [丁延庆, 周棱波, 汪灿, 等, 2019. 酱香型酒用糯高粱研究进展[J]. 生物技术通报, 35(5): 28-34.]

DONG EW, WANG JS, HAN PY, et al., 2012. Effect of fertilization or growth, dry matter accumulation, nutrient uptake and distribution in sorghum[J]. J Shanxi Agric Sci, 40(6): 645-650. [董二伟, 王劲松, 韩鹏远, 等, 2012. 施肥对高粱生长、干物质积累与养分吸收分配的影响[J]. 山西农业科学, 40(6): 645-650.]

GONG GL, WANG L, WANG XY, et al., 2020. Research advances in plant endophytes Bacillacea[J]. J Biol, 37(3): 5.[龚国利, 王亮, 王旭阳, 等, 2020. 植物内生芽孢杆菌的研究进展[J]. 生物学杂志, 37(3): 5.]

何建清, 张格杰, 赵伟进, 等, 2019. 砂生槐根瘤内生细菌多样性及其促生潜力研究[J]. 江苏农业科学, 47(12): 297-301.

LI L, SUN H, LIU ZB, et al., 2016. Research on mechanism and development direction of microbial fertilizer[J]. J Northeast Agric Sci, 41(4): 63-69. [李乐, 孙海, 刘政波, 等, 2016. 微生物肥料的作用、机理及发展方向[J]. 东北农业科学, 41(4): 63-69.]

LI XQ, LIU YG, SONG GJ, et al., 2019. Current situation and development trend of microbial organic fertilizer industry in China[J]. Chin Fruit & Vegetable, 39(4): 4. [李西强, 刘延刚, 宋国静, 等, 2019. 国内微生物有机肥生产现状与发展趋势[J]. 中国果菜, 39(4): 4.]

LIANG ZC, YANG GP, BAI B, et al., 2019. Potential of the tobacco endophytic bacterium YN201448 in tobacco seedling substrate and compound fertilizer[J]. J Yunnan Agric Univ (Nat Sci), 34: 838-844. [梁志超, 杨国萍, 白兵, 等, 2019. 烟草内生细菌YN201448 用于

烟苗基质和肥料的潜力研究 [J]. 云南农业大学学报(自然科学), 34: 838-844.]

LIU LF, DI YN, HE LL, et al., 2020. Study on the Growth Promotion Effect and IAA Production Capacity of *Bacillus subtilis* B9[J]. J Yunnan Agric Univ (Nat Sci), 2020, 35(2): 227-234, 275. [刘鲁峰, 狄义宁, 何丽莲, 等, 2020. 内生枯草芽孢杆菌 B9 促生长效果及产吲哚乙酸(IAA)能力研究[J]. 云南农业大学学报（自然科学）, 35(2): 227-234, 275]

MA JH, WANG YG, SUN Y, 2013. Effects of low phosphorous stress on the morphologies and physiological indices of different sorghum cultivars at seedling stage[J]. J Plant Nutr Fertil, 19(5): 1083-1091. [马建华, 王玉国, 孙毅, 等, 2013. 低磷胁迫对不同品种高粱苗期形态及生理指标的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 19(5): 1083-1091.]

马宗琪, 衣宁, 杨发斌, 等, 2014. 植物中氮磷钾元素含量的快速测定方法[J]. 现代农业科技, (1):140-140.

秦耀祖, 尹统利, 1980. 氮、磷肥对高粱生长发育的影响[J].吉林农业大学学报, (4): 1-5.

WU YH, LENG CF, CHEN YY, et al., 2023. Study on the growth-promoting effect and biological function of *Bacillus velezensis* BMF03 on cucumber seedlings[J]. J Northeast Agric Sci, 48(3): 106-111. [吴玉洪, 冷超凡, 陈莹莹, 等, 2023. 贝莱斯芽孢杆菌 BMF03 对黄瓜幼苗促生长作用及其生物学功能研究[J]. 东北农业科学, 48(3): 106-111.]

杨清华, 2018. 森林土壤中水解性氮测定方法改进研究[J]. 现代农业科技, (18) 2:131-132.

ZHANG RS, DAI XH, LIU YF, et al., 2018. Growth promoting effect of *Bacillus amylolytica* Lx-11 and analysis of growth promoting substances in rice[J]. J Nucl Agric Sci, 32(6): 1230-1238. [张荣胜, 戴秀华, 刘永锋, 等, 2018. 解淀粉芽孢杆菌 Lx-11 的促水稻生长作用及促生长物质分析[J]. 核农学报, 32(6):1230-1238.]

ZHENG QZ, LI FM, ZHU SJ, et al., 2016. Effects of various treatments on seed germination of *Stipa glareosa*[J]. Chin J Ecol, 35(1): 63-71. [郑庆钟, 李发明, 朱淑娟, 等, 2016. 不同处理对沙生针茅种子萌发的影响[J]. 生态学杂志, 35(1): 63-71.]

ALOU MT, RATHORED J, KHELAIFIA S, et al., 2015. *Bacillus rubiinfantis* sp. nov. strain mt2T, a new bacterial species isolated from human gut[J]. New Microbes New Infect, 9(8): 51-60.

BALINT M, TIFFIN P, HALLSTROEM B, et al., 2013. Host genotype shapes the foliar fungal microbiome of balsam poplar (*Populus balsamifera*)[J]. Plos One, 8(1): e53987.

CUEVA-YESQU NLG, GOULART MC, ANGELIS DAD, et al., 2021. Multiple plant growth-promotion traits in endophytic bacteria retrieved in the vegetative stage from passionflower[J]. FR Plant Sci, 11: 621740.

DUDEJA SS, GIRI R, SAINI R, et al., 2011. Interaction of endophytic microbes with legumes[J]. J Basic Microb, 51(3): 248-260.

HUELSENBECK JP, RONQUIST FR, 2011. MrBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics 17: 754–755(MrBayes 3.1.2).

KOTB E, 2015. Purification and partial characterization of serine fibrinoltic enzyme from *Bacillus velezensis* KSK-07 isolated from kishk, a traditional Egyptian fermented food[J]. Appl Biochem and Microbiol, 51(1): 34-43.

NICOLÁS DFS, LUISA FP, GERMÁN SM, et al., 2020. *Bacillus subtilis* EA-CB0575 genome reveals clues for plant growth promotion and potential for sustainable agriculture[J]. Funct Integr Genomics, 20(4): 575-589.

NUTARATAT P, AMSRI W, SRISUK N, et al., 2015. Indole-3-acetic acid production by newly isolated red yeast *Rhodosporidium paludigenum*[J]. J Gen Appl Microbiol, 61: 1-9.

POSADA D and CRANDALL KA, 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution.

Bioinformatics 14: 817–818(ModelTest3.7).
RONQUIST FR and HUELSENBECK JP, 2003. MrBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models[J]. Bioinformatics, 19: 1572–1574(MrBayes 3.1.2).
SANTOYO G, MORENO-HAGELSIEB G, DEL OROZCO-MOSQUEDA MC, GLICK BR, 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes[J]. Microbiol. Res. 183: 92–99.
CUMMINGS MP, 2004. PAUP* [Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods)][M]. American Cancer Society.
Cancer Society.TEALE W D, PAPONOV I A, PALME K, 2006. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 7: 847-859.